

Thesis

MUNICH

1967

Experimentelle Untersuchungen
zur postmortalen Todeszeitpunktbestimmung
aus dem Überleben von
Nebenhodenschwanzspermien

Rainer Haas

LANE MEDICAL LIBRARY OF
STANFORD UNIVERSITY
300 PASTEUR
PALO ALTO, CALIFORNIA



Digitized by the Internet Archive
in 2026

AUS DEM INSTITUT FÜR GERICHTLICHE MEDIZIN UND
VERSICHERUNGSMEDIZIN DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN
Direktor: Professor Dr. W. LAVES

EXPERIMENTELLE UNTERSUCHUNGEN
ZUR POSTMORTALEN TODESZEITPUNKTBESTIMMUNG AUS
DEM ÜBERLEBEN VON NEBENHODENSCHWANZSPERMIIEN

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

vorgelegt von
Rainer Haas
aus Neumarkt

München 1967

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter:	Professor Dr. W. SPANN
Mitberichterstatter:	Professor Dr. W. LAVES
Dekan:	Professor Dr. M. KIESE

Tag der mündlichen Prüfung: 4. 7. 1967

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
I. Frühere Untersuchungen zur postmortalen Todeszeitpunktbestimmung	6
II. Theoretische Vorbemerkungen	7
III. Experimentelle Untersuchungen	9
IV. Diskussion	11
V. Zusammenfassung	15
VI. Literatur	16

I. FRÜHERE UNTERSUCHUNGEN ZUR POSTMORTALEN TODESZEITPUNKTBESTIMMUNG

1928 befaßte sich O. Schmidt mit der Beweglichkeit der postmortal entnommenen Spermien. Er entnahm sie entweder der Urethra, da bei akut auftretendem Tod oft noch eine Spontanejakulation erfolgt, oder den Glandulae vesiculosae. Die Flüssigkeit wurde stets ohne Zusatz gleich nach der Entnahme nur auf die Beweglichkeit der Spermien mikroskopisch untersucht, wobei die beweglichen als lebende Samenfäden betrachtet wurden. Schmidt stellte fest, daß die Lebensfähigkeit der Spermatocyte sehr stark wechselt. Die Zellen können schon sehr kurz nach dem Tode absterben, andererseits beobachtete er auch eine sehr lange Überlebensdauer (bis zu 122 Stunden). Er kam seinerzeit zu dem Ergebnis, daß man bei noch beweglichen den Leichen entnommenen Spermien keine Angaben über den Zeitpunkt des eingetretenen Todes machen kann.

Schleyer wandte sich mehr den postmortalen klinisch-chemischen Untersuchungen zu, wie dem postmortalen Glucosespiegel, das Verhalten der Gesamteiweiße, des Reststickstoffes, der Harnstoffkonzentration, des Kreatinins, der BKS, des pH-Wertes, der Aminosäuren, der Gerinnung, des Prothrombins, des Fibrinogens, des Muskelglykogens und der Milchsäure.

Er kam zu folgenden optimalen Methoden zur Leichenaltersbestimmung:

"Die Todeszeitschätzung an Hand des Grades der Leichenstarre und der Entwicklung der Todenflecken gestattet bekanntlich nur ganz grobe Angaben. Gerade für die Zeitspanne ab etwa 6-8 Stunden p. m. bis zum Auftreten von Fäulniszeichen gewinnen somit chemische und physikalische Methoden eine große Bedeutung. Aus den vielerlei Untersuchungen ergibt sich jedenfalls: Es ist bisher keine Substanz gefunden worden, deren p. m. Veränderung mit Sicherheit so regelmäßig verläuft, daß ihre Bestimmung allein einen verlässlichen Rückschluß auf das Alter der Leiche in Stunden ermöglicht. Dagegen bietet die Kombination mehrerer Verfahren theoretisch durchaus die Wahrscheinlichkeit einer annähernd richtigen Festlegung des Leichenalters. Schouraupe hat unter Verwendung von 4 Bestimmungen (Rest-N., Aminosäuren, Milchsäure im Liquor, axilläre Temperatur) an 50 Leichen mit bekannter Todeszeit den Versuch unternommen, den Todeszeitpunkt zu bestimmen.

Mittels Übertragung der Werte auf die Mittelwertkurve (Regressionslinien) der Einzelbestimmungen der 4 Determinanten an etwa 70 anderen Leichen erhielt er in 84% der Fälle eine Genauigkeit von ± 1 Stunde, in 100% von $\pm 1,5$ Stunden. Er gab folgende Formel an:

$$(36 - \text{ax. Temp}) + \text{antilog.} \left(\frac{\text{Milchsäure}}{180} \right) + \frac{\text{Rest-N-15}}{16.7} + \frac{\text{A. S. -1}}{7.3}$$

Ab etwa 15^h p. m. wird diese Formel infolge der zunehmenden Streuung der Einzelwerte immer unzuverlässiger."

Am zuverlässigsten für eine annähernd exakte Bestimmung der Todeszeit erscheint nach Schleyer die Kombination folgender Werte: axilläre Temperatur, Aminosäuren im Liquor, Kreatinin (bei nierengesunden Verstorbenen), Hypoxanthin und Xanthin im Liquor.

II. THEORETISCHE VORBEMERKUNGEN

Mac Leod fand heraus, daß bewegliche Spermien befruchtungsunfähig sein können, da die Fertilität vor der Bewegungsfähigkeit erlöschen kann, während sich andererseits unbewegliche Spermien in einem vorübergehenden Ruhestand befinden können und deshalb nicht befruchtungsunfähig sein müssen. Joel beschreibt, daß die Bewegungsdauer der Samenfäden aus dem Nebenhodenkopf nur die Hälfte derjenigen aus dem Nebenhodenschweif beträgt, ebenso vergrößert sich auch die Widerstandsfähigkeit gegen Wärme und Elektrolyte mit zunehmender Reife. Mac Leod nimmt an, daß im Nebenhoden eine Substanz sezerniert wird, welche die Bewegung ermöglicht und die sich wahrscheinlich in Form einer schuttkolloiden Hülle um jeden einzelnen Samenfaden legt. Aus der Arbeit von Mac Leod geht außerdem hervor, daß die Bewegung gerade unter anaeroben Bedingungen sehr lange erhalten bleibt und nach Sauerstoffzufuhr abnimmt.

Mac Leod untersuchte den Temperatureinfluß auf die Bewegungsintensität: Höhere Temperaturen bewirken eine Steigerung der Bewegung, verkürzen aber die Lebensdauer recht erheblich

bei 41°C	Bewegung von	6 - 8 Stunden
bei Körpertemp.	"	" 18 - 32 Stunden
bei 19 - 23°C	"	" 39 - 82 Stunden

Kälte übt dagegen einen konservierenden Einfluß aus. Sie hebt die Bewegung auf und versetzt die Samenfäden in einen Ruhezustand, welcher durch Wärmezufuhr beliebig oft aufgehoben werden kann. Bei Kühlschranktemperatur von 8°C gelang es Belding Spermien in Bakerlösung bis 626 Stunden beweglich zu erhalten, bei einem Durchschnitt von 153 Stunden. Der Einfluß der Verdünnung mit Bakerlösung (nach Mac Leod)

	Mittel	Bewegungsdauer	Minimum	Maximum
Vitalpräparat		85	3	252
Bakerlösung		195	28	700

Die Bakerlösung setzt sich zusammen aus Glucose, Na Cl, Phosphatpuffer bei einem pH von 7,8, wobei die Glucose den Samenfäden sehr wahrscheinlich als Energiequelle dient. Da auch unbewegliche Spermien noch leben können, ging man zu verschiedenen Färbungen über, insbesondere die Vitalfärbung, mit der man tote und lebende Spermien unterscheiden kann. Sie beruht darauf, daß eine wässrige Eosinlösung (5% bzw. 0,5 - 1% Eosin) die Zellmembran toter oder prä-mortale geschädigter Zellen durchdringt, während die vitalen, jedoch oft unbeweglichen Spermien die Farbe nicht annehmen. Die Anfärbung der Spermien ist nach Heinke durch die Wirkung des Farbstoffes bestimmt, der nur im Falle einer Membranschädigung toter Spermien einzudringen vermag.

Im normalen Ejaculat sind nach Heinke 95-100% Samenfaden ungefärbt. Bei guter Motilität stehen die Quantität der beweglichen und der Prozentsatz der ungefärbten Spermien weitgehend parallel.

Schuermann und Doepfner beschreiben eine längste Lebensdauer bei $+2$ bis $+4^{\circ}\text{C}$.

Swanson und Bearden (1951) fanden, daß eine Färbung mit 1%iger Eosinlösung und 5%iger Nigrosinlösung in isotonischem Citratpuffer konstante Ergebnisse ergaben, selbst wenn die Samenflüssigkeit von 1:1 bis 1:12 in der Verdünnung und der pH-Wert von 6,4 - 8,7 schwankte. Die Anzahl der toten Spermien war am niedrigsten, wenn man einen diagonalen Querschnitt von der Samenflüssigkeit betrachtete, was besagt, daß in der Samenflüssigkeit eine ungleiche Verteilung der Zellen vorliegt. Auf Grund der Zählung zweier Chirurgen berichtete Campbell (1953), daß die Variation von einer Zählung zur anderen von einer Samenflüssigkeit mit der willkürlichen Verteilung einer binomialen Verteilung gleich war.

Bane (1952) fand nur geringe Unterschiede zwischen dem Prozentsatz ungefärbter Spermien und dem beweglicher Spermien.

Schirren befaßte sich 1958 ausführlich mit der Vitalfärbung und kam zu folgendem Ergebnis:

"Zusätzliche Studien mittels weiterer Färbungen erbrachten den Beweis, daß es sich bei den rotgefärbten Spermatozoen tatsächlich um pathologische Formen handeln muß."

Bishop und Smiles lieferten in ihrem Bericht eine weitere Möglichkeit. Sie stellten fest, daß unter ultraviolettem Licht tote Spermien blaues Licht fluoreszieren, lebende dagegen unsichtbar bleiben.

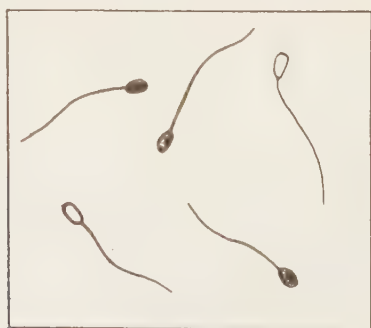


ABB. 1: Vitalfärbung nach Heinke.
Die gefärbten Spermien sind tot.

III. EXPERIMENTELLE UNTERSUCHUNGEN

Zunächst war das Problem zu lösen, die richtige Anfärbung der Spermien herauszufinden. Dazu verhalf die aus der Literatur gewonnene Kenntnis, daß

- 1.) die Spermien mit Bakerlösung gut zu mobilisieren sind,
- 2.) die lebenden von den toten Spermien durch die Vitalfärbung unterschieden werden können.

1. Versuchsreihe:

Vergleich der durch Masturbation gewonnenen Samenfäden nach den beiden oben genannten Methoden.

	Zeit	Beweglichkeit	Vitalfärbung
0	Stunden	80%	90%
1	Stunde	80%	85%
7	Stunden	50%	70%
8	Stunden	50%	60%
24	Stunden	30%	50%
48	Stunden	0%	10%

Die Samenflüssigkeit wurde bei Zimmertemperatur in einer feuchten Kammer gelagert. Die Diskrepanz zwischen der Beweglichkeit und der Vitalfärbung erklärt sich daraus, daß nicht alle unbeweglichen Spermien schon abgestorben und sie infolgedessen noch nicht anfärbbar sind. Die schwach rosa angefärbten Samenfäden wurden zu den bereits abgestorbenen gerechnet, da sie nicht in einem einzigen Fall von der Bakerlösung aktiviert werden konnten.

2. Versuchsreihe:

Nachdem sich eine Übereinstimmung zwischen Anfärbung und quantitativer Beweglichkeit ergeben hatte, wurde die Vitalfärbung bei den frisch von den Leichen entnommenen Spermien angewandt. Dabei ergab sich das Problem, wo sie am zweckmäßigsten zu entnehmen seien.

Sie wurden nicht den Samenblaschen entnommen, da sie dort den Bakterien sehr stark ausgesetzt sind, sondern mit Bakerlösung aus dem Nebenhodenschwanz herausgeschwemmt, nachdem er vom Hoden getrennt und der Länge nach aufgeschnitten worden war. In 12 Untersuchungen ergab sich eine gute Verwertung der Vitalfärbung nach Heinke.

3. Versuchsreihe:

Bei 51 Untersuchungen wurde die Zahl der ungefärbten mit den gefärbten Spermien, d. h. der lebenden mit den toten verglichen. Diese wurden nicht mit der Bakerlösung (da sie für die Zählkammer infolge der großen Glukosemoleküle ungeeignet ist) sondern mit physiologischer NaCl-Lösung aus dem aufgeschnittenen Nebenhodenschwanz ausgeschwemmt. Dann wurden 2 - 3 Tropfen dieser so gewonne-

nen Flüssigkeit mit derselben Menge 1%iger Eosinlösung gemischt und nach 1 Minute in der Neubauerkammer in jeweils 10 verschiedenen Quadraten die ungefärbten und die gefärbten Spermatocyten ausgezählt, der Mittelwert von beiden festgestellt und die gewonnenen Werte in Prozenten umgerechnet.

IV. DISKUSSION

Die gefundenen Werte wurden auf einem doppelt logarithmierten Papier aufgetragen. Auf der Abszisse wurden die Stunden und auf der Ordinate die Prozentwerte eingetragen. Es ergab sich ein Punkteschwarm, der in diesem System eine lineare Regression wahrscheinlich machte.

Diskussion der Fälle, bei denen sämtliche Spermien angefärbt waren, wobei 2 Möglichkeiten in Betracht kamen:

- 1.) Eine Nekrospermie, die schon zu Lebzeiten vorhanden war. Erst wenn bei wiederholten Untersuchungen des Ejaculats eine nicht zu behebbende Immotilität auftritt, bezeichnet man dies als Nekrospermie.

Es wurden sämtliche Nullwerte (alle Spermien angefärbt) gestrichen, da bei ihnen der Verdacht bestand, daß hier entweder eine Nekrospermie vorlag oder post mortal eine Veränderung erfolgte, die eine totale Anfärbung aller Spermien bei der Vitalfärbung bewirkte. Deshalb wurden auch alle Fälle über 65 Jahre ausgeschieden, da hier häufig ein relativ geringer Prozentsatz an beweglichen Spermien vorlag.

- 2.) Schädigung in der Spermiogenese:

Nach MacLeod wird die Morphologie der Spermien in einem hohen Grade von der körperlichen und geistigen Gesundheit des Mannes beeinflusst.

Bei akuten Erkrankungen	86%	normale Spermien
bei chronischen Erkrankungen	59%	" "
bei Geschwulstbildungen	57%	" "
bei Epilepsie, Schizophrenie		
Alkoholismus	37%	" "
bei Tbc	21%	" "

Bei unseren Fällen befanden sich 4, die mehrfache Bluttransfusionen (bis zu 10 Konserven) erhielten und 1 mit einer metabolischen Azidose. Auffallend war bei diesen 5 Fällen, daß alle Spermien rot angefärbt waren. Aus diesem Grunde wurden sie für die Statistik nicht herangezogen.

Aus den Untersuchungsergebnissen der verbliebenen 37 Fälle wurden auf Empfehlung von Dr. rer. nat. Stenger sowohl die Prozentwerte als auch die Stunden logarithmiert, da die Zeichnung, wie oben angeführt, eine Gerade wahrscheinlich machte.

Die statistische Auswertung ergab die Regressionsgleichung $\lg Y = 2,85771 - 0,96078 \lg x$ und den Korrelationskoeffizienten von $r = -0,79$. Die Korrelation ist bei diesem Koeffizienten mit einer Sicherheit von über 99,9% gegeben. Das Bestimmtheitsmaß r^2 betrug 0,626. Dies sagt aus, daß der Abfall an ungefärbten (= lebenden) Spermatocyten zu 62,6% auf die Zeit zwischen Todeseintritt

und Untersuchungszeitpunkt zu beziehen ist, während 37,4% des Abfalls durch andere Einflüsse zu erklären sind.

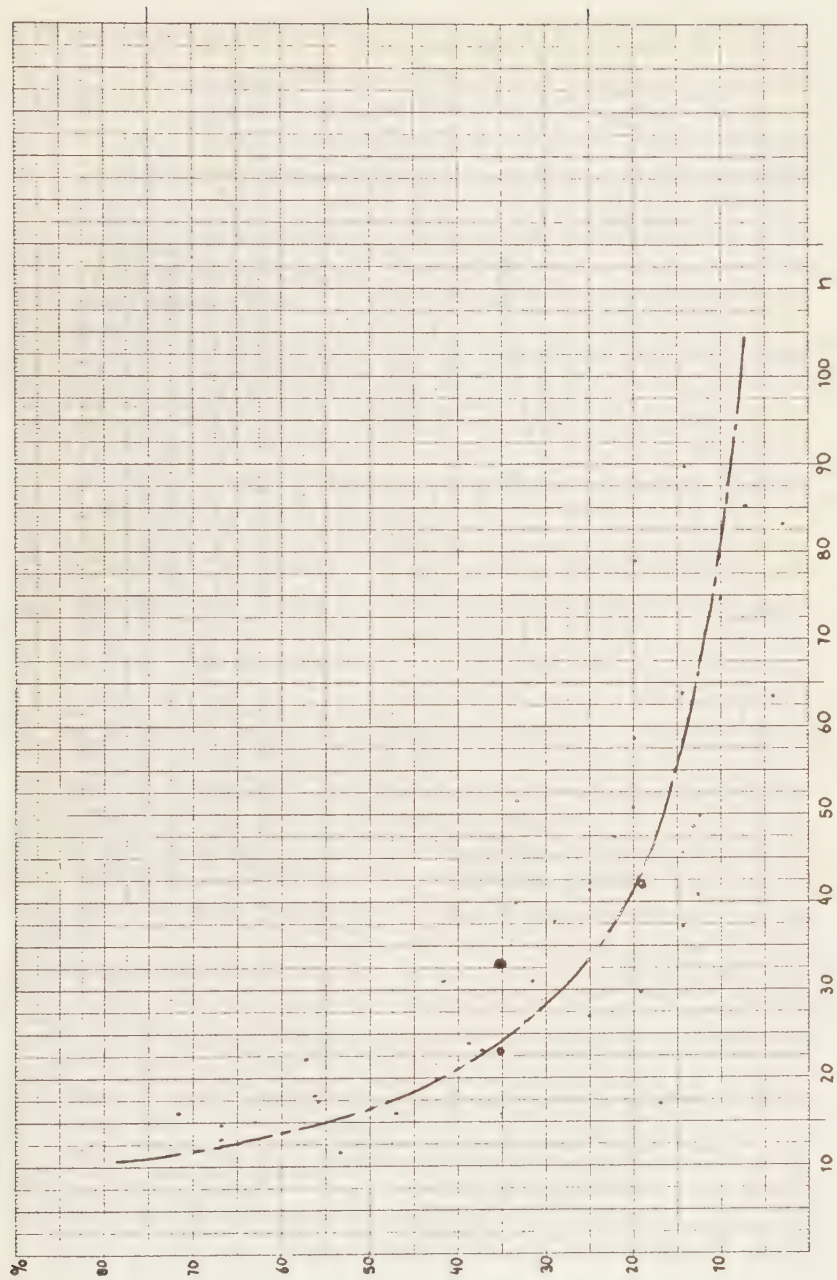
Es sei noch erwähnt, daß auch der parameterfreie Rangkorrelationskoeffizient mit $\rho = -0,82$ den statistischen Zusammenhang sichert und in guter Übereinstimmung mit dem logarithmisch ermittelten Korrelationskoeffizienten liegt.

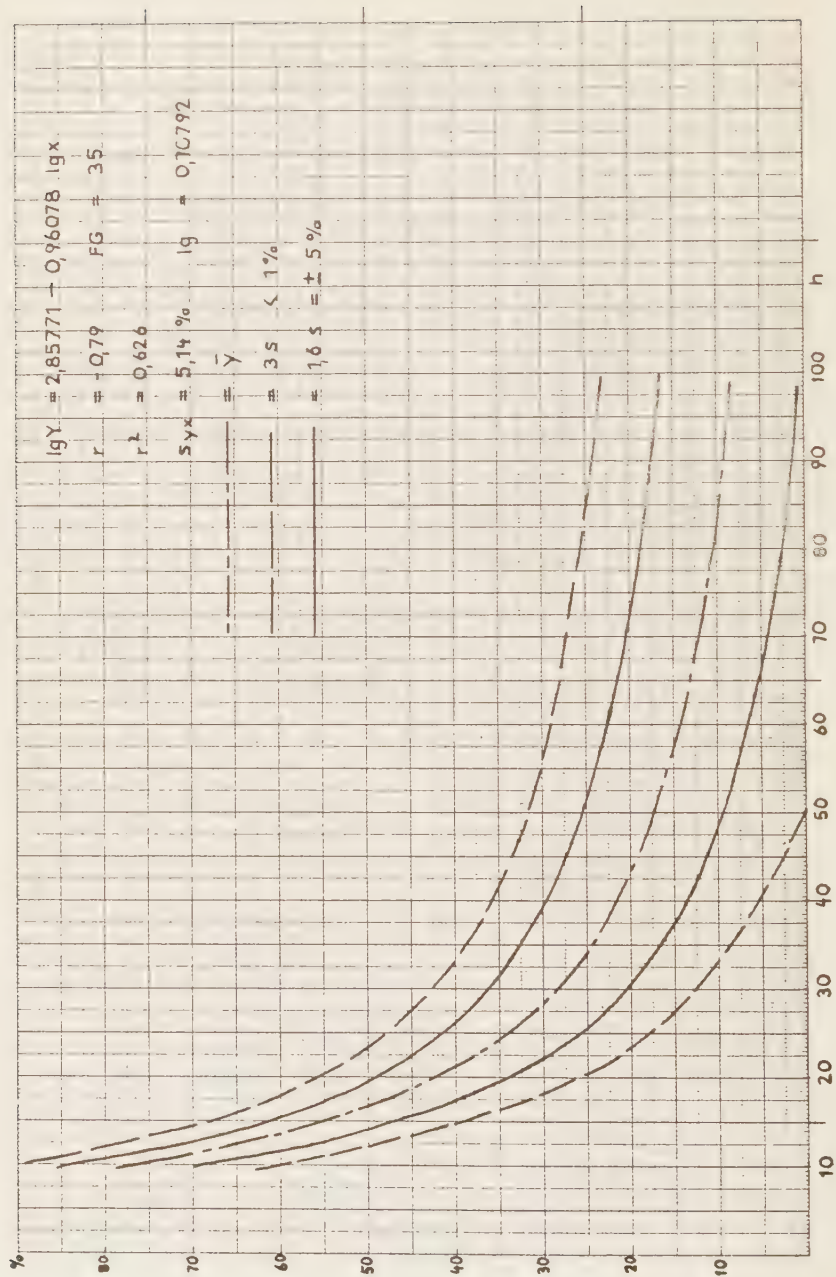
Die Streuung der Einzelwerte s_{xy} war 5,14%. In der folgenden Tabelle sind die delogarithmierte Regressionskurve und die dazugehörigen Kurven für eine Streuung von 1,6s und 3s dargestellt. Die Kurven 1,6s gehen von einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $\pm 5\%$ aus, die von 3s, von einer solchen unter $\pm 1\%$ und beziehen sich auf eine einzelne Untersuchung.

Bei 3 Nachkontrollen lagen die erhaltenen Werte gut innerhalb der Grenzen der 5%igen Irrtumswahrscheinlichkeit.

Aus den Kurven ergibt sich, daß bei unbekannter Zeit zwischen Todeseintritt und Untersuchung der Anfärbbbarkeit der Nebenhodenspermien sich um einen Mittelwert Mindest- und Maximalzeiten ablesen lassen. Die Differenz der Mindest- und Maximalzeiten vergrößert sich mit zunehmender Zeit zwischen Todeseintritt und Untersuchung.

Es ist darauf hinzuweisen, daß die Mindestzeiten von der Voraussetzung ausgehen, daß zu Lebzeiten keine Abweichungen einer normalen Spermiogenese aufgetreten waren.





V. ZUSAMMENFASSUNG

Aus 37 Untersuchungen wurde eine negative Korrelation zwischen Zeit und Prozentsatz lebender Nebenhodenschwanzspermatozoen bestimmt. Die Unterscheidung lebender und toter Spermien wurde durch die Vitalfärbung nach Henke vorgenommen. Es wurde die Regressionsgleichung nach Logarithmierung der Zeiten und Prozentzahlen errechnet. Für den Einzelfall läßt sich aus dieser nicht linearen Regressionslinie in Verbindung mit den dazugehörigen Vertrauensgrenzen aus dem Prozentsatz lebender Nebenhodenschwanzspermatozoen mit einer entsprechenden Genauigkeit ein Rückschluß auf den Todeszeitpunkt erzielen.

Hierfür können die Fälle, bei denen sämtliche Spermatozoen tot waren, nicht bewertet werden, da möglicherweise zu Lebzeiten Abweichungen von der Normospermie bestanden oder solche post mortem auftraten.

Dem Direktor des Institutes für Gerichtliche Medizin, Herrn Professor Dr. med. W. LATZKE, danke ich herzlich für die Übernahme des Vorreferates und für die gute Arbeitsmöglichkeit im Institut.

Herrn Professor Dr. med. W. SPANN spreche ich meinen aufrichtigen Dank für die Überlassung des Themas sowie seine Unterstützung bei der Durchführung der Untersuchungen aus.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Dr. E. JERHARDT, wissenschaftlicher Assistent am Institut für Gerichtliche Medizin und Versicherungsmedizin für die zahlreichen Hinweise und für die Unterstützung bei der Auswertung der Arbeit.

LEBENS LAUF

Am 27. 3. 1941 wurde ich als 3. Sohn des praktischen Arztes Dr. Max Haas und seiner Ehefrau Elisabeth, geb. Schröder, in Weiden geboren.

Nach der üblichen Schulzeit legte ich an der Oberrealschule in Neumarkt die Reifeprüfung im Sommer 1961 ab.

Im Wintersemester 1961/62 begann ich an der Universität in Erlangen mit dem Studium der Medizin. Nach 5 vorklinischen Semestern in Erlangen und 6 klinischen Semestern in Innsbruck und München legte ich im Frühjahr 1967 das medizinische Staatsexamen ab.

